

PATENT FAMILY SEARCH FOR RU2103360

Subaccount 20166-003001

SOURCES:

Selected file: PLUSPAT

PLUSPAT - (c) Questel-Orbit, All Rights Reserved.
Comprehensive Worldwide Patents database
Individual records for each Country or Patent Office
Coverage: 75 patenting authorities; start dates vary from 1800 forward
For PlusPat Fact Sheet, Pricing and FAQ, see the Questel.Orbit website
Now available: Citations / Search Reports for German (DE) documents
Last update of file: 2006/01/25 (YYYY/MM/DD) 2006-03/UP (last update)

Selected file: WPAT

Derwent World Patents Index, (c) Thomson Scientific
UP (basic), UE(equiv), UA (poly), UB (chem) : updates through 2006-07
Manual Code Revision 2006 - final lists available on Thomson Scientific
Website. Revised codes will be implemented in the first update of 2006.
Please review lists to update manual codes in SDIs and stored searches.
Last database update : 2006/01/31 (YYYY/MM/DD)

Selected file: INPD

INPADOC International Patent Documentation Center
Source: European Patent Office - EPIDOS
Individual publication stage records for each Patenting Authority
Coverage: 75 patent offices ; start dates vary from 1968 forward
Current through weekly update 2006-04/up ; last update 2006/01/27
IPC Classes: for searching prior to 2006, use the qualifier: /IC
For searching IPC v8 (pd>=2006), use the qualifiers: /ICAA /ICCA

Selected file: USPAT

US Patents Full Text of United States Patent and Trademark Office
Coverage : 1971 to present (2006-05/UP)
Last database update : 2006/01/31 (YYYY/MM/DD)
For complete file information : see INFO USPAT
NEW 09/09/03 Kind Code for US Design patents from D to S1

Selected file: USAPPS

US Patent Applications full-text from USPTO (c) Questel.Orbit
Coverage: from beginning of Pre-Grant publication in March 2001
Reloaded: FactSheet on web. Pricing, see: INFO USAPPS
Last database update: 2006/01/26 (YYYY/MM/DD) 2006-04/UP

Selected file: IFIPAT

IFIPAT Claims/US Patents (c) IFI /CLAIMS(R) Patent Services
Thru PGP pd=2006-01-19 (2006-03/uap); Grant PD=2006-01-24 (2006-04/up)
Std Biblio thru PGP PD=2001-11(2002-11/uam);Grant PD=2005-05(2005-12/UM)
Chem Indxg thru PGP PD=2004-05(2005-11/uab);Grant PD=2005-09(2006-01/UB)
Reloaded 01/15/04 with Updated US Classes, & Business Terms(/BT)
From 06/04 forward questionable source data received from USPTO shows
PCT filing date, not date of national stage as app date for US patents
that entered via PCT route. IFI is investigating.

PATENT FAMILY

#	Patent No.	Kind	Date	Applc.No.	Date
1)	RU2103360	C1	19980127	1996RU-0115552	19960725

Priority :
1996RU-0115552 19960725

1 / 1 PLUSPAT - ©QUESTEL-ORBIT

Patent Number :

RU2103360 C1 19980127 [RU2103360]

Publication Stage :

(C1) Patent for invention

Title :

(C1) NUTRIENT MEDIUM FOR CULTURING EUKARYOTIC CELLS AND METHOD FOR
PREPARING BASE OF PROTEOLYTIC HYDROLYZATE MEDIUM

Patent Assignee :

(C1) ERMISHINA INNA GEORGIEVNA; MEJNERT ADRIAN GEORGIEVICH; ERMOLIN
GENNADIJ ANDREEVICH; DUDKIN SERGEJ MAROVICH

Inventor(s) :

(C1) ERMISHINA INNA GEORGIEVNA; MEJNERT ADRIAN GEORGIEVICH; ERMOLIN
GENNADIJ ANDREEVICH; DUDKIN SERGEJ MAROVICH

Intl Patent Class :

(C1) A23J-003/04 A23J-003/30 C12N-005/00

Application Nbr :

RU96115552 19960725 [1996RU-0115552]

Priority Details :

RU96115552 19960725 [1996RU-0115552]

Update Code :

2000-26

ENGLISH LANGUAGE ABSTRACT FOR RU2103360

1 / 1 WPAT - ©Thomson Derwent

Accession Nbr :

1998-435503 [37]

Sec. Acc. CPI :

C1998-132286

Title :

Nutrient medium for culturing eukaryotic cells - comprises proteolytic hydrolysate, bovine blood serum and Hanks medium

Derwent Classes :

B04 C03 D16

Patent Assignee :

(EREM/) EREMINA N G

Inventor(s) :

EREMINA NG; ERMOLIN GA; MEINERT AG

Nbr of Patents :

1

Nbr of Countries :

1

Patent Number :

RU2103360 C1 19980127 DW1998-37 C12N-005/00 9p *

AP: 1996RU-0115552 19960725

Priority Details :

1996RU-0115552 19960725

IPC s :

C12N-005/00 A23J-003/04 A23J-003/30

Abstract :

RU2103360 C

Nutrient medium for culturing eukaryotic cells "Avtofizat-1" comprises: (vol.%): proteolytic hydrolysate of fish processing waste (0.15-0.2), bovine blood serum (5-10) and Hanks medium (rest). The hydrolysate is prepared by: (i) grinding commercial fish processing waste with intestines; (ii) mixing it with equal volume of distilled water, and (iii) hydrolysing at 40-42 deg. C with ammonia until the amine nitrogen content reaches 5.5-6.5%, and free aminoacids content 50-60%. The mixture is then inactivated by heating at an isoelectric point.

USE - The medium is especially useful in biochemistry, veterinary science and medicine.

ADVANTAGE - The medium is cheaper than the currently used media.

(Dwg.0/0)

Manual Codes :

CPI: B04-B04D4 C04-B04D4 B04-F01 C04-F01 B11-A01 C11-A01 D05-H01

Update Basic :

1998-37



(19) RU (11) 2 103 360 (13) С1
(51) МПК⁶ С 12 Н 5/00, А 23 Ј 3/04, 3/30

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21), (22) Заявка: 96115552/13, 25.07.1996

(46) Дата публикации: 27.01.1998

(56) Ссылки: 1. Справочник по микробиологическим питательным средам. /Под редакцией М.М. Меджидова. - Махачкала, 1989, с. 104. 2. Morgan F. et al Nutrition of animal cells in tissue culture. J. Ynitiol studies on a synthetic medium. Proc. Soc.Exp. Biol. Med. 1950, 78, 1, p.1 - 8.

(71) Заявитель:

Ермишина Инна Георгиевна,
Мейнерт Адриан Георгиевич,
Ермолин Геннадий Андреевич,
Дудкин Сергей Марович

(72) Изобретатель: Ермишина Инна Георгиевна,
Мейнерт Адриан Георгиевич, Ермолин
Геннадий Андреевич, Дудкин Сергей Марович

(73) Патентообладатель:

Ермишина Инна Георгиевна,
Мейнерт Адриан Георгиевич,
Ермолин Геннадий Андреевич,
Дудкин Сергей Марович

(54) ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК ЭУКАРИОТОВ И СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ
ОСНОВЫ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ - ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОГО ГИДРОЛИЗАТА

(57) Реферат:

Использование: в биотехнологии, ветеринарии и медицине. Сущность изобретения: питательная среда для культивирования клеток эукариотов включает сыворотку крови крупного рогатого скота, раствор Хенкса и протеолитический гидролизат отходов рыболовных промыслов,

который получают путем протеолитического гидролиза отходов тушек промысловых рыб, измельченных с кишечником в щелочной среде. Смесь перемешивают с дистиллированной водой в соотношении 1: 1. Гидролиз ведут до массовой доли аминного азота 5,5-5,6% и свободных аминокислот 50-60%, 2 с.п.ф.-лы, 6 табл.

RU 2 103 360 С1

R U
2 1 0 3 3 6 0
C 1



(19) RU (11) 2 103 360 (13) C1

(51) Int. Cl. 6 C 12 N 5/00, A 23 J 3/04, 3/30

RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21), (22) Application: 96115552/13, 25.07.1996

(46) Date of publication: 27.01.1998

(71) Applicant:

Ermishina Inna Georgievna,
Mejnert Adrian Georgievich,
Ermolin Gennadij Andreevich,
Dudkin Sergej Marovich

(72) Inventor: Ermishina Inna Georgievna,
Mejnert Adrian Georgievich, Ermolin Gennadij
Andreevich, Dudkin Sergej Marovich

(73) Proprietor:

Ermishina Inna Georgievna,
Mejnert Adrian Georgievich,
Ermolin Gennadij Andreevich,
Dudkin Sergej Marovich

(54) NUTRIENT MEDIUM FOR CULTURING EUKARYOTIC CELLS AND METHOD FOR PREPARING BASE OF PROTEOLYTIC HYDROLYZATE MEDIUM

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology; veterinary practice; medicine. SUBSTANCE: nutrient medium has the following composition: slaughtered cattle blood, Henchs solution and proteolytic hydrolyzate resulting from treatment of fishery wastes. The last component is produced from wastes of bodies

of commercial fishes comminuted with fish intestines in alkali medium. Mixture is mixed with distilled water in ratio 1:1 and subjected to hydrolysis until weight fraction of amine-bound nitrogen reaches 5.5-5.6%, and that of free amino acids, 50-60%. EFFECT: higher biological value of product. 6 tbl

C 1

2 1 0 3 3 6 0

R U

R U
2 1 0 3 3 6 0
C 1

R U 2 1 0 3 3 6 0 C 1

Изобретение относится к медицинской и ветеринарной биотехнологии и касается усовершенствованного способа получения протеолитического гидролизата отходов переработки рыбы, а также питательной среды на его основе, предназначенный для выращивания клеток эукариотов - производителей биологически активных веществ, используемых для производства диагностических и профилактических биологических и медицинских препаратов.

Известен способ получения основы питательных сред включающий измельчение белоксодержащего сырья (внутренние органы рыб) его гидролиз в присутствии хлороформа в щелочной среде при температуре 40-42°C в течение 2-2,5 сут с последующим прогреванием биомассы при температуре 90 °C в течение 5-10 мин и осаждением высокомолекулярных соединений в изоэлектрической точке белка [1].

Известен способ получения основы питательных сред путем гидролиза кильки в присутствии поджелудочной железы крупного рогатого скота при температуре 37-40°C в течение суток с последующим прогреванием биомассы при 80°C в течение 5-10 мин с последующим фильтрованием и высушиванием. Протеолитический гидролизат содержит не менее 18 аминокислот [2]. Однако, указанный процесс получения основы питательных сред включает использование дорогостоящего продукта - фермента поджелудочной железы.

Известна питательная среда (ПС), полученная из продуктов ферментативного гидролиза белка молока (ГЛА) [3] производства фирмы "Дифко" (США), которая используется, главным образом, для первично-трипсинизированных культур клеток.

Известна также ПС 199 для культивирования различных гетероплоидных перевиваемых клеток человека и животных [4]. ПС 199 содержит более 60 компонентов, в том числе 20 аминокислот, 17 витаминов, коэнзимы, глюкозу, минеральные соли и некоторые другие вещества; Среда полностью синтетическая. ПС 199 используется для длительного культивирования перевиваемых клеточных культур и обеспечивает высокую степень стандартности исследования. Недостатком является сложная технология ее изготовления из дорогостоящих реагентов. В условиях биотехнологического производства, где требуется большое количество питательной среды для получения клеточной биомассы ПС 199 не рентабельна.

Задачей изобретения является упрощение технологии получения протеолитического гидролизата и снижение себестоимости конечного продукта - основы питательной Среды, а также создание новой питательной Среды Автофизат-1 для культивирования клеток эукариотов.

Сущность изобретения заключается в том, что измельченную белоксодержащую массу-гомогенат, состоящую из отходов промысловых рыб на стадии разделки (неполноценные тушки и кишечник, содержащий протеолитические ферменты), смешивают с водой в весовом соотношении 1:1, выдерживают при температуре 40-42°C при pH 7,6-8,0 в присутствии хлороформа при

перемешивании в течение 18 ч с последующим прогреванием биомассы при температуре 90°C в течение 5-10 мин, осаждением высокомолекулярных соединений в изоэлектрической точке белка, фильтрованием и высушиванием конечного продукта.

Сущность изобретения заключается в том, что питательная среда Автофизат-1 для культивирования клеток эукариотов содержит протеолитический гидролизат (ПГ) гомогената отходов промысловых рыб и внутренних органов при следующем соотношении компонентов, об. %:

ПГ гомогената отходов промысловых рыб и внутренних органов - 0,15-0,20

Сыворотка крови КРС - 5-10

Раствор Хенкса - Остальное

Полученный описываемым способом протеолитический гидролизат отходов промысловых рыб и внутренних органов - полноценный продукт, содержащий в своем составе 18 свободных аминокислот, в том числе все незаменимые для культивирования изолированных клеток человека и животных, а также набор витаминов, включая группу В и витамин Е (табл.1).

Для изготовления ферментативного гидролизата не требуется экзогенных протеолитических ферментов, а ПС на его основе обеспечивает стандартные условия культивирования клеток эукариотов. Среда полноцена в отношении всех жизненно необходимых изолированной клетке компонентов, обеспечивает стандартные условия культивирования изолированных клеток с типичной морфологией без признаков цитопатологии в течение длительного срока.

Пример 1. Получение протеолитического гидролизата.

Отходы промысловых рыб (тушки и кишечник лососевых и тресковых) промывают проточной водой и измельчают. Гомогенат разводят дистиллированной водой в весовом соотношении 1:1 и проводят гидролиз при температуре 42°C при pH 7,8 в присутствии хлороформа (1,0 об.%) при перемешивании в течение 18 ч.

Гидролиз прекращают прогреванием при температуре 90°C в течение 10 мин. При этом коагулируют и выпадают в осадок нерастворимые белки.

Оставшиеся в надосадочной жидкости высокомолекулярные соединения осаждаются в изоэлектрической точке белка, надосадочную жидкость фильтруют, затем подвергают высушиванию в потоке горячего воздуха, методом распыления. Режим высушивания (на входе 130°C на выходе 70°C) обеспечивает получение сухого препарата с остаточной влажностью не более 3,0%. Полученный продукт имеет следующие физико-химические характеристики:

Тонкодисперсный порошок, гигроскопичный, от белого до светло-кремового цвета с характерным запахом без гнилостного;

pH 1%-ного раствора - 5,5-6,5;

Растворимость, % - не менее 10;

Массовая доля общего азота, % - 11-12;

Массовая доля аминного азота, % - 5,5-6,5;

Массовая доля свободных аминокислот, % - 50-60.

Аминокислотный состав сухого конечного

C 1 0 3 6 0 C 1
2 1 0 3 3 6 0 C 1

R
U
2
1
0
3
3
6
0
C
1

C
1
0
3
3
6
0
C
1

продукта (%) приведен в табл.2.

Строгое соблюдение условий процесса и регулярный контроль физико-химических параметров продукта в процессе гидролиза позволяет получать в достаточной степени стандартный результат, имеющий разброс количественных показателей аминокислот не более 5-6%.

Пример 2. Подобрана концентрация протеолитического гидролизата отходов промысловых рыб и внутренних органов рыб, обеспечивающая оптимальные условия жизнедеятельности перевиваемой линии клеток почки человека RH-PA.

Результаты представлены в табл.3.

Из приведенных в табл.3 данных следует, что оптимальные условия для роста и развития клеток обеспечивает ПС, содержащая 0,15-0,2 об.% ферментативного гидролизата отходов промыловых рыб и внутренних органов рыб (что соответствует содержанию аминного азота 14-15 мг% соответственно содержанию аминного азота в ПС 199).

Пример 3. Биологические ростовые свойства предлагаемой ПС испытывали при культивировании гетеропloidных перевиваемых линий клеток: почки человека RH-PA и СПЭВ в сравнении с ПС 199 производства ИПМ и ВЭ АМН РФ (все Среды дополнены 5% сыворотки КРС) (табл.4). Из представленных в табл.4 данных следует, что ПС Автофизат-1 (0,2 об.% протеолитического гидролизата отходов рыб на растворе Хенкса) обладает ростстимулирующими свойствами, идентичными ростстимулирующим свойствам ПС 199 производства ИПМ и ВЭ АМН РФ.

Видовая специфичность разных пород рыб, использованных для получения гидролизата, не оказывает влияния на ростстимулирующие свойства конечного продукта.

Пример 4. Проведена оценка ростстимулирующих свойств ПС Автофизат-1 в процессе длительного пассирования (табл.5) на ней перевиваемой линии клеток почки человека RH-PA в сравнении с синтетической питательной средой 199. Концентрация клеток при засеве 1,0-1,5 x 10 кл/мл, концентрация сыворотки КРС 5%, коэффициент пересева 1:3. Сроки формирования монослоя 3-4 сут.

Полученные данные свидетельствуют о том, что при длительном пассировании перевиваемой культуры клеток почки человека RH-PA ростстимулирующая активность ПС Автофизат-1 аналогична ростстимулирующей активности ПС 199.

Пример 5. Определена способность ПС Автофизат-1 обеспечивать восстановление жизнеспособности перевиваемой линии клеток почки человека RH-PA, замороженных на 30-ом пассаже после криоконсервации.

Полученные данные представлены в табл.6.

Данные, представленные в табл. 6, свидетельствуют о том, что клетки, выращенные в ПС Автофизат-1, сохраняют хорошую жизнеспособность и к пятому пассажу после размораживания полностью восстанавливают свои свойства.

Таким образом описываемый способ

получения ферментативного гидролизата позволяет сохранить технологию процесса и снизить себестоимость конечного продукта за счет использования белоксодержащих отходов рыболовных промыслов и ферментсодержащих внутренних органов рыб.

Питательная среда "Автофизат-1" на основе полученного ферментативного гидролизата отходов рыболовных промыслов и ферментсодержащих внутренних органов рыб обладает хорошими ростстимулирующими свойствами как для первичных, так и для перевиваемых гетеропloidных линий клеток животных и человека, что позволяет применять ее для получения больших количеств клеточной биомассы в биотехнологических производствах наряду и вместо многокомпонентной синтетической питательной средой ПС 199.

ИСТОЧНИКИ ИНФОРМАЦИИ

- 20 1. Патент РФ N 2001101, кл. E 12 N 1/20, 15.10.93.
- 25 2. Справочник по микробиологическим питательным средам. Под редакцией Меджидова М.М., Махачкала, 1989, с.104.
- 30 3. Melnick f., Riordan f., "Polyomyelitis viruses in tissue culture IV. Protein free nutrient media in stationary and roller tube culture. Proc.Soc. Exp.Biol.Med., 1452, 81, p.208-213.
- 35 4. Morgan f.F. et al.Nutrition of animal cells in tissue culture I.Ynitial studies on a synthatic medium. Proc.Soc.Exp.Biol.Med., 1950, 78,1, p. 1-8.

Формула изобретения:

- 35 1. Питательная среда для культивирования клеток эукариотов, включающая сыворотку крови крупного рогатого скота и раствора Хенкса, отличающаяся тем, что она дополнительно содержит протеолитический гидролизат отходов рыболовных промыслов, полученный путем протеолитического гидролиза отходов тушек промыловых рыб, измельченных совместно с кишечником в щелочной среде, при следующем соотношении компонентов, об.
- 40 2. Протеолитический гидролизат отходов рыбных промыслов 0,15-0,20
- 45 3. Сыворотка крови крупного рогатого скота 5

- 50 4. Раствор Хенкса Остальное
- 55 5. Способ получения основы питательной среды протеолитического гидролизата для культивирования клеток эукариотов, предусматривающий протеолитический гидролиз отходов рыболовных промыслов в щелочной среде, температурную инактивацию, фильтрование и высушивание, отличающийся тем, что в качестве отходов рыболовных промыслов используют отходы тушек промыловых рыб, которые измельчают совместно с кишечником, затем смешивают с дистиллированной водой в соотношении 1:1, гидролиз ведут при температуре 40-42°C до массовой доли аминного азота 5,5-6,5% и массовой доли свободных аминокислот 50-60% температурную инактивацию проводят в изоэлектрической точке.

R U 2 1 0 3 3 6 0 C 1

Таблица 1.
Содержание витаминов в высушенному протеолитическом гидролизате
отходов промысловых рыб.

Витамины	Содержание мкг/г
1. Тиамин (B_1)	13,5
2. Рибофлавин (B_2)	1,4
3. Пантотеновая кислота (B_5)	35,0
4. Пиридоксин (B_6)	9,7
5. Никотиновая кислота (РР)	215,3
6. Биотин (Н)	0,119
7. Фолиевая кислота (B_c)	7,54
8. Цианокобаламин (B_{12})	1,8
9. Мезо-инозит	336,8
10. Витамин Е	98,0

Таблица 2

Аминокислотный состав сухого конечного продукта (%):

изолейцин	2,9 + 0,2	глутаминовая кислота	11.56 + 0,02
лейцин	4,98 + 0,02	аспаргиновая кислота	7,44 + 0,01
валин	4,03 + 0,31	пролин	7,81 + 0,02
тронин	5,32 + 0,04	глицин	20,43 + 0,05
серин	6,01 + 0,05	аланин	10,74 + 0,03
метионин	0,65 + 0,03	лизин	3,94 + 0,04
тироzin	1,33 + 0,01	гистидин	0,65 + 0,03
фенилаланин	2,39 + 0,04	аргинин	3,98 + 0,02
		триптофан	0,51 + 0,06

R U 2 1 0 3 3 6 0 C 1

Таблица 3

Влияние концентрации протеолитического гидролизата отходов промысловых рыб и внутренних органов рыб в составе питательной Среды Автофизат-1 на жизнедеятельность перевиваемой линии клеток почки человека RH-PA в течение 4-х суток роста (концентрация клеток при засеве $1.0\text{--}1.5 \times 10^5$ кл/мл, концентрация сыворотки КРС - 5%).

Концентрация гидролизата (об. %)

0.1	0.15	0,2	0.3
Монослой 60 - 70% зарастания поверхности культурального сосуда, клетки правильной формы, без признаков цитопатологии.	Монослой 100% зарастания поверхности культурального сосуда. клетки правильной формы без признаков цитопатологии.	Монослой 100% зарастания поверхности культурального сосуда. клетки правильной формы без признаков цитопатологии.	Монослой 50 - 60% зарастания поверхности культурального сосуда. клетки правильной формы без признаков цитопатологии.

RU 2103360 C1

RU 2103360 C1

Таблица 4.

Оценка ростстимулирующих свойств ПС Автофизат-1 на пролиферативную активность некоторых гетероплоидных перевиваемых линий клеток в сравнении с синтетической питательной средой.

Тип культуры	Число клеток при засеве в среде ПС ПС199 Авто- физат-1	Коэффициент пересева в среде ПС ПС199 Авто- физат-1	Сроки формирования конфлюэнтного монослоя в среде ПС Авто- физат-1	Индекс пролиферации в среде	
				ПС	ПС199 Авто- физат-1
1	2	3	4	5	6
Перевиваемая линия клеток почки человека RH-PA 16 пассаж на					

RU 2103360 C1

RU 2103360 C1

1	2	3	4	5	6
ферментатив ном гидроли- зате отходов промышлен- ных рыб: лососевые	1.0 - 1.5x10 ⁵	1.3	3-4	3.5	3.4
тресковые Перевивас- мая линия клеток СПЭВ	1.0 - 1.5x10 ⁵	1.4	3	3.5	3.5
лососевые тресковые Перевиваемая линия клеток почки теленка	1.0-1.5x10 ⁵	1.4	4 - 5	4	4
ПТ-80 лососевые	1.0-1.5x10 ⁵	1.4	3 - 4	4	4
тресковые Перевиваемая линия клеток У-41 лососевые	1.0-1.5x10 ⁵	1.4	4 - 5	4	4
тресковые					

Таблица 5.

Длительность пассивирования в сутках (клетки RH-PA)	Индекс пролиферации (клетки RH-PA)	
	ПС Автофизат-1	ПС 199
5	3.4	3.5
10	3.4	3.4
20	3.3	3.4
30	3.5	3.5

Таблица 5.

Тип культуры	Концентрация жизнеспособных клеток после размораживания, %	Концентрация при засеве после размораживания, кл/мл	Номер пассажа после размораживания с принятой для данной культуры посевной концентрацией
	ПС Автофизат-1 ПС 199	ПС Автофизат-1 ПС 199	ПС Автофизат-1 ПС 199
RH-PA	70-75 70-75	5.0 x 10 ⁵ 5.0 x 10 ⁵	5 5

RU 2103360 C1

RU 2103360 C1